

# The Effects of Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) in Mouse Lung Cancer Cells

Seung Min Kwak<sup>1</sup>, Se Kyu Kim<sup>2,3</sup>, Sung Kyu Kim<sup>2,3</sup>, and Chul Ho Cho<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Inha University College of Medicine; <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine; <sup>3</sup>The Institutes of Chest Diseases, Seoul, Korea

**Purpose:** Insulin-like growth factor-I (IGF-I) is an important mitogen in many types of malignancies. The purpose of this study was to evaluate the role of the IGF system on cell proliferation and cell death in mouse lung cancer cell lines (3LL).

**Materials and Methods:** Northern analysis was performed in 3LL cells. We evaluated the phosphorylation of IGF-I receptor (IGF-IR) with IGF-I stimulation. MTT assay was performed after treating 3LL cells with IGF-I and the treatment effect on cell death in the presence of anticancer drug was investigated.

**Results:** Northern analysis revealed the presence of IGF-I and IGF-IR mRNA expression in 3LL cells. IGF-I increased cellular proliferation in serum free media. IGF-I also stimulated the tyrosine phosphorylation of two proteins: one, with a molecular mass of 95 kDa, was

the  $\beta$ -subunit of IGF-IR; the other, with an approximate molecular mass of 185 kDa, was originally identified as the insulin receptor substrate-I (IRS-I). IGF-I at a low concentration inhibited the cell death induced by adriamycin.

**Conclusion:** IGF-I, a mitogen through the phosphorylation of the IGF-IR  $\beta$ -subunit, acts as a survival factor to inhibit cell death. Therefore, these findings suggest that IGF-I and IGF-IR are involved in both the cell proliferation and cell death associated with cancer cell growth. (*Cancer Research and Treatment 2002;34:122-127*)

**Key Words:** Insulin-like growth factor-I (IGF-I), IGF-I receptor (IGF-IR), Cell proliferation, Cell death, Survival factor

## 서 론

폐암(1)을 비롯하여 유방암(2), 대장암(3) 등 여러 가지 원발성 암(4)에서는 정상 세포보다 성장인자 및 그의 수용체가 증가되어 있으며 특히 전이성 암은 이런 성장인자에 영향을 받아 전이가 잘 되는 것으로 알려져 있다(5).

암세포의 성장은 체내에 있는 세포증식과 세포사망의 균형에 의해 이루어지는데 이것은 세포증식이 많거나 혹은 세포사망이 적게 발생하는 경우에 암이 성장하는 것을 의미한다(6). 이런 세포증식에 필요한 인체 내의 여러 가지 성장 요소에는 insulin-like growth factor-I (IGF-I), epidermal growth factor (EGF), platelet-derived growth factor (PDGF), fibroblast growth factor (FGF) 등이 있는데 이들 성장요소는 실질세포(parenchymal cells) 혹은 지지세포(mesenchymal

cell)에 의해 분비되어 endocrine 혹은 paracrine effect로(7) 또는 암세포 자체에 의한 autocrine effect로 세포증식에 관여한다(8). 대부분의 암세포는 반복되는 세포주기에 의해 성장을 하는데, 세포가 휴지기인 G0기에서 G1기로 진입하는데는 성장인자인 IGF-I, EGF, PDGF, FGF 등과 같은 적격인자(competence factor)들이 필요하며, 이 중 IGF-I은 DNA의 합성에 필요한 G1기에서 S기로 진입하는데 필요한 유일한 진행인자로 알려져 있다(9).

IGF-I은 ligand로서 그의 수용체인 IGF-I receptor (IGF-IR)에 반응함으로써 유사분열효과(10), 형질변환 및 종양발생을 유발하고(11) apoptosis를 방지하는 역할을 한다(12,13). IGF-I은 IGF-IR의 세포 내  $\beta$ -subunit인 tyrosine kinase를 인산화시켜, 신호전달을 통해 여러 가지 세포 내 신호물질들을 활성화시키는 것으로 보고되고 있다(14).

이에 본 저자들은 마우스 폐암세포주(3LL)에서 IGF-I 및 IGF-IR의 표현을 확인하고, 이들이 세포증식과 세포사망에 어떠한 역할을 하는 지 알아보고자 다음과 같은 실험을 시행하였다.

Correspondence: Seung Min Kwak, Department of Internal Medicine, Inha University College of Medicine, 7336 Taepyeong 4-dong, Sujeong-gu, Seongnam 461-712, Korea. (Tel) 031-720-5319, (Fax) 031-755-2812, (E-mail) smkwak@inha.ac.kr

Received December 6, 2001, Accepted April 9, 2002

## 재료 및 방법

## 1) 세포배양

3LL (American Type Culture Collection, Rockville, MD)은 C57BL/6 마우스의 폐암세포주로, 세포의 배양은 Dulbecco's modified Eagle's medium (Gibco)에 5% fetal bovine serum (FBS), sodium pyruvate, nonessential amino acids, L-glutamine 과 2배의 vitamin solution (Gibco, Grand Island, NY)을 사용하여 5% CO<sub>2</sub> 세포 배양기에 37°C에서 배양하였다.

## 2) Northern blot에 의한 mRNA 표현

마우스 폐암세포주에서 oligo (dT)-cellulose chromatography로 poly (A)<sup>+</sup> mRNA를 추출하고, 1% denaturing formaldehyde agarose gel을 이용하여 0.6 A로 전기영동한 후, Genescreen nylon membrane (DuPont Co., Boston, MA)에 전이시켜 UV Stratalinker 1800 (Stratagene, La Jolla, CA)을 이용하여 120,000μJ/cm<sup>2</sup>로 cross-link하였다. Filter는 60°C에 30 mM NaCl/3 mM sodium citrate, pH 7.2/0.1% sodium dodecyl sulfate (wt/vol)로 3번 세척하였다. Probe는 human IGF-I의 cDNA fragment (Thomas Jefferson대학의 Baserga 교수로부터 구함)와 human IGF-IR의 cDNA fragment (Thomas Jefferson대학의 Baserga 교수로부터 구함)를 사용하였고, 대조되는 probe로는 1.3 kb의 human glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 사용하였다. 각 cDNA fragment는 agarose gel 전기영동과 GeneClean (BIO 101, La Jolla, CA)으로 분리한 후, [<sup>32</sup>P]deoxyribonucleotide triphosphates 동위원소를 이용하여 random primer 방법으로 표지하였다.

## 3) Tyrosine kinase의 인산화 관찰

성장배지에서 자란 세포를 serum-free medium에서 배양하였고 단백질의 인산화는 24시간 후에 측정하였다. IGF-I에 의한 tyrosine kinase의 인산화를 보기 위해 serum free media 단독 혹은 IGF-I (50 ng/ml)과 함께 10분 동안 처리한 후, 1 mM sodium orthovanadate, 5 mM EDTA, 10 mM sodium florid가 포함된 cold PBS로 3번 세척하고 0.3 ml lysis buffer (1% Triton X-100, 20 mM Tris, pH 8.0, 137 mM NaCl, 10% glycerol, 1 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 2 mM EDTA, 1 mM PMSF, 20μM leupeptin, 0.15 U/ml aprotinin)로 세포를 용해시켰다. 상층액을 4°C에서 15분 동안 14,000 rpm으로 원심분리하여 추출한 다음, -70°C에서 보관하였다. 추출된 단백질은 Bradford 방법으로 정량하여 각 well 당 30μg을 12.5% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)로 전기영동한 후, nitrocellulose membrane (Amersham, Arlington Heights, IL)에 전이시켰다.

Tris-buffered saline-Tween (TBST)에 희석한 3% non-fat milk로 차단(blocking)한 후, horse radish peroxidase로 conjugated된 monoclonal anti-phosphotyrosine antibody (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY)를 일차항체로 4°C에서 18시간 반응시켰다. TBST로 3회 세척한 다음 10,000배 희석한 이차항체인 peroxidase-conjugated anti-rabbit secondary antibody (Amersham)로 실온에서 1시간 반응시킨 후 세척하였고, enhanced chemiluminescence (ECL) kit (Amersham)를 이용하여 단백질의 tyrosine 인산화를 관찰하였다.

## 4) 세포증식

세포의 증식정도는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma, St. Louis, MO)를 이용하여 측정하였다. 세포는 96 well 세포배양용기에 2,500 cells/well로 분주한 후 12시간 이상 배양하여 부착시키고, FBS가 없는 세포 배양액에서 24시간 배양하였다. 그 후 serum free 혹은 serum containing media에서 IGF-I (Upstate Biotechnology) 및 adriamycin (Sigma)을 처리하고 3일간 배양한 후, MTT (최종농도: 80μg/ml)를 첨가하여 2내지 3시간 배양한

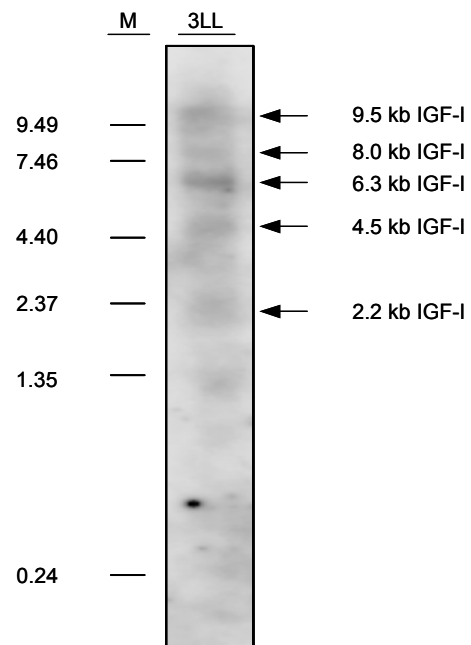


Fig. 1. Northern analysis of IGF-I mRNA transcripts. Poly (A) mRNA was prepared from mouse lung cancer cells (3LL) and normal fibroblast cells (3T3) by oligo (dT)-cellulose chromatography, fractionated on a 1% denaturing formaldehyde agarose gel, electrotransferred and UV cross-linked to Genescreen nylon membrane. Sizes of the IGF-I mRNA bands are shown on the right in kilobases (kb). M: molecular weight markers.

다음 배양액을 제거하였다. 세포의 증식정도는 100 $\mu$ l의 dimethylsulfoxide (DMSO) (Sigma)를 각 well에 첨가한 후, spectrophotometer (Dynatech, Alexandria, VA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

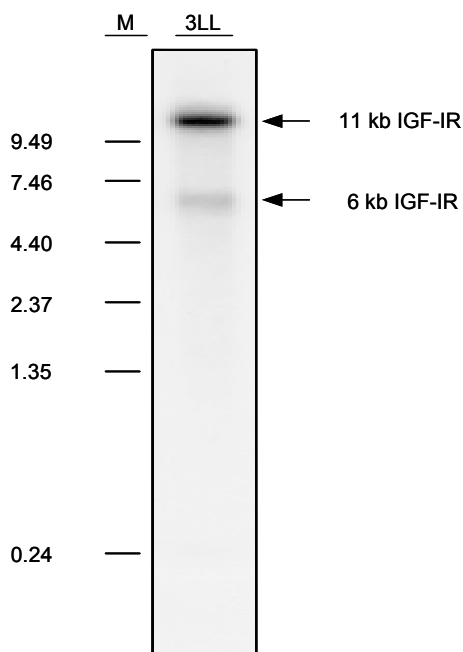
### 5) 통계 분석

모든 실험 결과값은 평균값 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ SD)로 표현하였고, 통계학적 분석은 Student's *t*-test로 검증하였으며, *p*값이 0.05 이하일 때를 통계학적으로 유의한 결과로 규정하였다.

## 결 과

### 1) 마우스 폐암세포(3LL)에서 IGF-I과 IGF-IR mRNA 표현

IGF-I mRNA 표현을 관찰하기 위해 IGF-I cDNA를 이용하여 Northern blot을 시행한 결과 3LL 폐암 세포주에서 5개의 밴드가 관찰되었다. 9.5 kb와 6.3 kb에서는 뚜렷한 밴드가 나타났고 8.0 kb, 4.5 kb 및 2.2 kb에서는 이보다 희미한 밴드



**Fig. 2.** Northern analysis of IGF-IR mRNA transcripts. Poly (A) mRNA was prepared from mouse lung cancer cells (3LL) and normal fibroblast cells (3T3) by oligo (dT)-cellulose chromatography, fractionated on a 1% denaturing formaldehyde agarose gel, electrotransferred and UV cross-linked to Genescreen nylon membrane. Sizes of the IGF-IR bands are shown on the right in kilobases (kb). M: molecular weight markers.

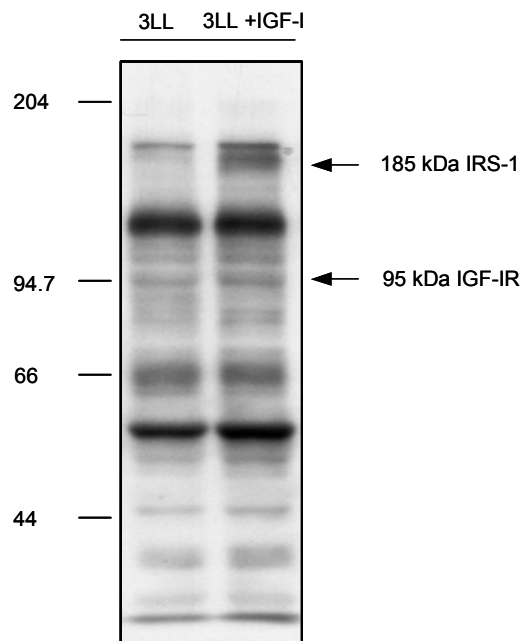
가 나타났다(Fig. 1). 한편 IGF-IR mRNA 표현을 관찰하기 위해 IGF-IR cDNA를 이용하여 Northern blot을 시행한 결과 11 kb와 6 kb에서 뚜렷한 밴드가 나타났다(Fig. 2).

### 2) IGF-I에 의한 tyrosine kinase의 인산화

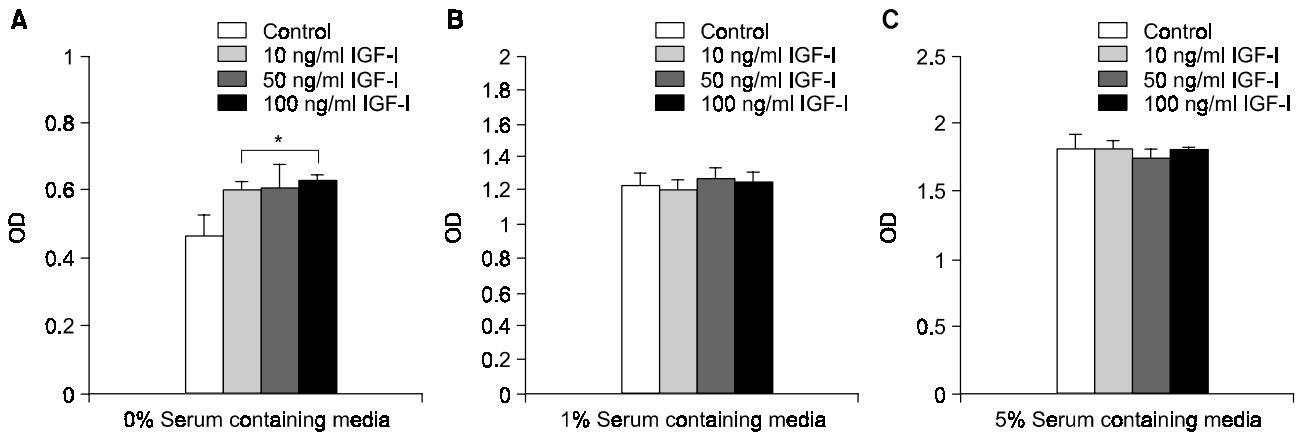
IGF-I에 의한 IGF-IR의 활성을 보기 위해서 anti-phosphotyrosine antibody를 이용하여 Western blot으로 인산화 정도를 측정하였다. IGF-I (50 ng/ml)을 첨가 시 IGF-I이 없는 경우에 비해 95 kDa과 185 kDa에서 인산화 증가를 보였다(Fig. 3). 분자량 95 kDa의 단백질은 IGF-IR  $\beta$ -subunit의 인산화에 의한 것이고, 분자량 185 kDa의 단백질은 기존에 알려진 insulin receptor substrate (IRS-1)의 인산화에 의한 것으로 생각된다.

### 3) IGF-I의 세포증식에 대한 영향

IGF-I에 의한 세포증식 여부를 알아보기 위해 MTT assay를 시행하였다. 0% serum media 대조군의 수치는  $0.47\pm$



**Fig. 3.** Phosphorylation of phosphotyrosine-containing proteins by IGF-I. Cells were treated in the presence or absence of IGF-I (50 ng/ml) after starvation in the serum free media for 24 h. Soluble proteins from total cell lysates (30 $\mu$ g/lane) were separated by 12.5% SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) under reducing condition, transferred to nitrocellulose. The immunoreactive band were detected by incubating blots with anti-phosphotyrosine antibody and visualized using enhanced chemiluminescence (ECL) kit system. Sizes of bands are shown on the right in kilodalton (kDa).

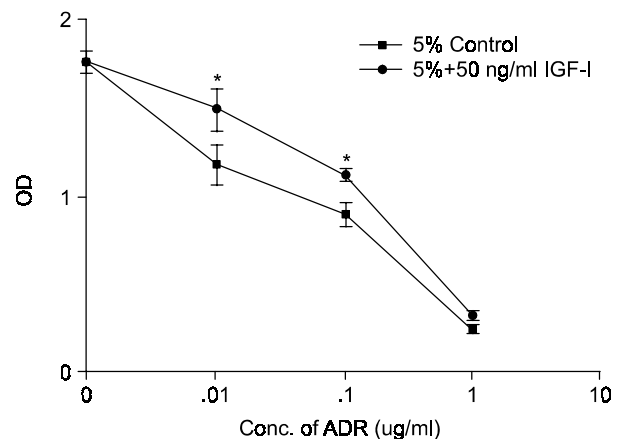


**Fig. 4.** The effect of IGF-I on cellular proliferation. Cells were plated at 2,500 cells/well overnight and then serum-starved for 24 h in serum free medium. Medium was aspirated and cells were incubated in DMEM containing 0%, 1% or 5% FBS supplemented with either 10 ng/ml, 50 ng/ml or 100 ng/ml IGF-I. The number of metabolically active cells were determined using the MTT assay. (A) 0% serum containing medium (B) 1% serum containing medium (C) 5% serum containing medium. Values are mean SD of quadruplicate observations. \* $p < 0.05$ , v.s. control.

0.06이었고, 10 ng/ml의 IGF-I 첨가 시에는  $0.60 \pm 0.03$ , 50 ng/ml의 IGF-I 첨가 시에는  $0.61 \pm 0.07$ , 100 ng/ml의 IGF-I 첨가 시에는  $0.63 \pm 0.02$ 로 첨가된 IGF-I에 의해 대조군보다 유의하게 세포증식이 증가하였다( $p < 0.05$ )(Fig. 4A). 반면 1% serum media 대조군의 수치는  $1.23 \pm 0.08$ 이었고, 10 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml의 IGF-I을 첨가 시에는 각각  $1.20 \pm 0.06$ ,  $1.28 \pm 0.05$ ,  $1.25 \pm 0.07$ 이었으며(Fig. 4B), 5% serum media 대조군의 수치는  $1.81 \pm 0.11$ 이었고, 10 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml의 IGF-I을 첨가 시에는 각각  $1.82 \pm 0.06$ ,  $1.74 \pm 0.08$ ,  $1.80 \pm 0.03$ 으로(Fig. 4C), 1% 및 5% serum media에서는 IGF-I 첨가가 세포증식에 영향을 미치지 않았다. 따라서 1% 및 5% serum media 즉 IGF-I이 기존에 존재하는 배지에 IGF-I을 첨가 시에는 세포증식에 차이가 없었으나, serum free media 즉 IGF-I이 존재하지 않는 배지에 IGF-I을 첨가 시에는 세포증식이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

#### 4) IGF-I의 adriamycin에 의해 유도된 세포사망에 대한 영향

MTT assay로 측정한 adriamycin (topoisomerase II inhibitor) 투여 전 5% serum media 대조군의 수치는  $1.77 \pm 0.07$ 이었다. Adriamycin 농도를 각각 0.01, 0.1,  $1 \mu\text{g/ml}$ 로 증가시켜 투여한 결과  $1.19 \pm 0.12$ ,  $0.90 \pm 0.07$ ,  $0.24 \pm 0.02$ 로 첨가된 adriamycin 농도에 비례하여 세포사망이 증가하였다. IGF-I이 adriamycin에 의해 유도된 세포사망에 어떤 영향을 미치는지 알기 위해 IGF-I (50 ng/ml)을 투여하여 MTT assay에 의한 세포증식을 측정하였다.  $0.01 \mu\text{g/ml}$ ,  $0.1 \mu\text{g/ml}$  adriamycin에 IGF-I을 첨가 시에는 각각  $1.50 \pm 0.12$ ,  $1.13 \pm 0.04$ 로



**Fig. 5.** The effect of IGF-I on cell death induced by adriamycin. Cells were plated at 2,500 cells/well overnight and starved in serum-free medium for 24 h. Medium was aspirated and changed with 5% serum-containing medium supplemented with different concentrations of adriamycin for 72 h in the presence or absence of IGF-I (50 ng/ml). The number of metabolically active cells was determined using the MTT assay. \* $p < 0.05$  v.s. ADR.

adriamycin 단독 투여 시의  $1.19 \pm 0.12$ ,  $0.90 \pm 0.07$ 보다 유의한 증가가 관찰되었다( $p < 0.05$ ). 그러나  $1 \mu\text{g/ml}$  adriamycin에 IGF-I을 첨가 시에는  $0.26 \pm 0.02$ 로, adriamycin 단독 투여 시  $0.24 \pm 0.02$ 와 비교하여 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 5). 즉 저농도(0.1,  $0.01 \mu\text{g/ml}$ ) adriamycin에서는 IGF-I 투여가 유의하게 세포사망을 억제하는 결과를 나타내었으나, 고농도( $1 \mu\text{g/ml}$ ) adriamycin에서는 IGF-I 투여로 세포사망에 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

## 고찰

Insulin-like growth factor (IGF) system은 ligand, receptor, binding protein으로 구성되는 복합성장인자계이다. Ligand인 IGF-I과 IGF-II는 인슐린과 구조적 상동성을 가지고 있고 (15), 각각의 수용체와 결합하여 세포성장과 분화를 조절하는데 중요한 역할을 하며 (16) 여러 종류의 정상 조직에서 합성될 뿐 아니라 여러 암조직 및 암세포에서 유래된 세포주에서도 합성됨이 보고되었다 (5).

우선 본 실험은 3LL 마우스 폐암세포주에서 IGF-I mRNA의 5개의 밴드를 관찰하였는데, 이는 3LL 마우스 폐암세포에서 관찰된 IGF-I의 message는 암세포 자체에서 분비하는 IGF-I이 존재한다는 것을 의미한다. 이러한 사실로 미루어 autocrine stimulation의 증식성 기전이 종양의 성장에 기여할 수 있다는 것을 추정해 볼 수 있겠다.

IGF-I의 세포에 대한 영향은 주로 IGF-I이 세포 내 IGF-IR에 결합함으로써 이루어진다. 이 IGF-IR은 한 개의 폴리펩타이드 체인으로서 인슐린 수용체와 같이  $\alpha_2\beta_2$  heterotetrameric structure를 가지고 있다.  $\alpha$ - 및  $\beta$ -subunit는 하나의 유전자로부터 전사되어 1367개의 아미노산으로 번역된 다음 가수분해되어  $\alpha$ -subunit,  $\beta$ -subunit와 두 subunit 사이를 이어주는 disulfide bond로 결합되어 tetrapeptide가 된다. IGF-I에 결합하는 부위는  $\alpha$ -subunit extracellular domain의 cystein-rich region에 의해 결정되고, 상대적인 ligand affinity는 IGF-I > IGF-II > insulin 순서이다. IGF-IR의  $\beta$ -subunit는 transmembrane tyrosine kinase로서  $\alpha$ -subunit로부터 받은 신호를 세포 안으로 전달하는 역할을 한다 (17).

IGF-IR은 Ullrich등에 의해 처음 human term placental cDNA library로부터 cloning되었고 그것의 아미노산 서열이 밝혀졌으며 (18), 이를 바탕으로 생체 내외의 여러 모델에서 IGF-IR의 표현이 어떻게 조절되는지 연구가 가능하게 되었다. 본 실험에서는 마우스 폐암세포주에서의 IGF-IR mRNA 표현여부를 관찰하기 위해 IGF-IR cDNA를 이용한 Northern blot을 시행하여 11 kb와 6 kb의 뚜렷한 밴드를 관찰할 수 있었다.

IGF-I이 IGF-IR에 결합하면 수용체 자동인산화 (autophosphorylation)를 유도한다. IGF-I과 IGF-II의 생물학적인 작용은 ras-raf-MAP kinase cascade에 연관된 transmembrane tyrosine kinase인 IGF-IR의 활성화에 의해 매개된다. 즉, IGF-IR은 인슐린 수용체와 마찬가지로 그것의  $\beta$ -subunit의 tyrosine kinase domain을 활성화시키고 세포 내의 여러 기질을 인산화시켜 세포 내 신호전달을 일으킨다 (19). 본 실험에서는 3LL 세포의 IGF-I 자극으로 2개 단백질의 tyrosine phosphory-

lation을 증가시켰으며, 그들 중 하나는 IGF-IR의  $\beta$ -subunit라고 알려진 95 kDa의 분자량을 가진 물질이고, 다른 하나는 분자량이 약 185 kDa의 물질인 IRS-I으로 생각되었다. 중요기질인 IRS-I은 tyrosine phosphorylation의 많은 부위를 가지고 있고, 다른 단백질의 docking protein으로서의 역할을 한다 (20).

본 실험에서는 3LL 세포에서 IGF-I이 기존에 존재하는 배지에 IGF-I을 첨가 시에는 세포증식에 변화가 없었으나, serum free media, 즉 IGF-I이 존재하지 않는 배지에 IGF-I을 첨가 시에는 세포증식의 증가를 관찰할 수 있었다. 본 실험의 MTT assay에 의한 세포 생존력의 관찰에서 얻어진 결과는, 본문에서는 그 결과를 제시하지는 않았지만,  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation test에서 얻어진 결과와 일치하였다. 즉 1% 및 5% serum containing media에는 기존의 IGF-I에 의해 세포주기가 진행되고 있어서 여기에 IGF-I을 첨가하더라도 세포주기의 진전을 통한 세포증식에는 큰 영향이 없었던 반면, IGF-I이 없는 free media에 IGF-I을 첨가 시에는 비로소 세포주기가 진행되어 세포증식이 증가된 것으로 생각된다. 따라서 IGF-I이 유사분열물질 (mitogen)의 역할을 할 수도 있음을 확인할 수 있었다.

세포생존의 증가는 apoptosis의 직접적인 저해 또는 증식률의 증가에 의해 일어날 수 있다. 신호전달의 여러 단계에서 양성적 또는 음성적으로 조절되는 기본적인 세포 내 program인 apoptosis는 특정 수용체 활성화에 의해 유도되거나 항암제 또는 방사선과 같은 독성물질에 의한 직접반응에 의해 유도될 수 있다 (21). 이러한 조건하에서 apoptosis를 일으키는 세포의 감수성은 부분적으로는 apoptosis pathway의 진전에 영향을 주는 성장인자-조절성 세포 내 신호체계에 좌우된다. 여러 가지 apoptosis에 대한 방어적 세포 내 조절 인자가 알려졌으나 성장인자들이 apoptosis를 저해하는 정확한 기전에 대해서는 보다 많은 연구가 필요하다. C-myc을 발현하는 섬유모세포에서 혈청 박탈 (serum deprivation)에 의해 유도된 apoptosis가 IGFs와 PDGF에 의해 억제될 수 있다는 보고가 있는데, 이 모델에서 EGF, FGF 및 bombesin과 같은 다른 유사분열물질들은 세포사망을 억제하지 못했다 (13).

본 실험에서는 세포사망을 유도하기 위해 항암제인 adriamycin을 투여한 결과, 첨가된 adriamycin 용량에 비례해 3LL 세포사망이 증가하는 결과를 보였으며, 또 IGF-I에 의한 세포사망의 억제를 보기 위해 adriamycin에 의해 세포사망을 유도한 후 IGF-I (50 ng/ml)을 투여한 결과, 고농도의 adriamycin (1  $\mu\text{g/ml}$ )에서는 세포사망의 차이가 없었으나 저농도의 adriamycin (0.1, 0.01  $\mu\text{g/ml}$ )에서는 세포사망을 억제하였다. 따라서 IGF-I은 저농도의 adriamycin에 의한 세포사

망을 억제하는 생존효과를 가지며, 항암제 투여 시 생체 내에서 IGF-I이 암세포의 세포사망을 억제하고 항암효과를 감소시켜 원발성 및 전이성 암의 성장에 관여할 것으로 생각된다. 또한 임상적으로도 IGF-I이 항암제에 의해 유도되는 3LL 세포의 세포사망에 중요한 역할을 하는 것을 알았으므로 IGF-I에 의한 세포생존 효과를 차단하는 것이 폐암 세포 항암치료의 효과를 증가시킬 수 있을 것으로 생각된다.

## 결 론

마우스 폐암세포주(3LL)에서 IGF-I은 IGF-IR의 tyrosine kinase를 활성화시켜 세포증식을 증가시키는 유사분열물질로 작용하고, IGF-I은 adriamycin에 의한 세포사망을 억제하는 생존인자로서 작용함을 알 수 있었다.

## REFERENCES

- Kaiser U, Schardt C, Brandscheidt D, Wollmer E, Havemann K. Expression of insulin-like growth factor receptors I and II in normal lung and in lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1993;119:665-668.
- Cullen KJ, Yee D, Sly WS, Perdue J, Hampton B, Lippman ME, Rosen N. Insulin-like growth factor receptor expression and function in human breast cancer. *Cancer Res* 1990;50:48-53.
- Guo YS, Narayan S, Yallampalli C, Singh P. Characterization of insulin-like growth factor I receptors in human colon cancer. *Gastroenterology* 1992;102:1101-1108.
- Tricoli JV, Rall LB, Karakousis CP, Herrera L, Petrelli NJ, Bell GI, Shows TB. Enhanced levels of insulin-like growth factor messenger RNA in human colon carcinomas and liposarcomas. *Cancer Res* 1986;46:6169-6173.
- Macaulay VM, Everard MJ, Teale JD, Trott PA, Van Wyk JJ, Smith IE, Millar JL. Autocrine function for insulin-like growth factor I in human small cell lung cancer cell lines and fresh tumor cells. *Cancer Res* 1990;50:2511-2517.
- Bresciani F, Paoluzi R, Benassi M, Nervi C, Casale C, Zaparo E. Cell kinetics and growth of squamous cell carcinomas in man. *Cancer Res* 1974;34:2405-2415.
- D'Ercole AJ, Stiles AD, Underwood LE. Tissue concentrations of somatomedin C: further evidence for multiple sites of synthesis and paracrine or autocrine mechanisms of action. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:935-939.
- Herlyn M, Kath R, Williams N, Valyi-Nagy I, Rodeck U. Growth-regulatory factors for normal, premalignant, and malignant human cells in vitro. *Adv Cancer Res* 1990;54:213-234.
- Baserga R, Rubin R. Cell cycle and growth control. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1993;3:47-61.
- Clemmons DR, Van Wyk JJ. Somatomedin-C and platelet-derived growth factor stimulate human fibroblast replication. *J Cell Physiol* 1981;106:361-367.
- Sell C, Dumenil G, Deveau C, Miura M, Coppola D, DeAngelis T, Rubin R, Efstratiadis A, Baserga R. Effect of a null mutation of the insulin-like growth factor I receptor gene on growth and transformation of mouse embryo fibroblasts. *Mol Cell Biol* 1994;14:3604-3612.
- Resnicoff M, Abraham D, Yutanawiboonchai W, Rotman HL, Kajstura J, Rubin R, Zoltick P, Baserga R. The insulin-like growth factor I receptor protects tumor cells from apoptosis in vivo. *Cancer Res* 1995;55:2463-2469.
- Sell C, Baserga R, Rubin R. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and the IGF-I receptor prevent etoposide-induced apoptosis. *Cancer Res* 1995;55:303-306.
- Sun XJ, Rothenberg P, Kahn CR, Backer JM, Araki E, Wilden PA, Cahill DA, Goldstein BJ, White MF. Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature* 1991;352:73-77.
- Rinderknecht E, Humble RE. Amino-terminal sequences of two polypeptides from human serum with nonsuppressible insulin-like and cell-growth-promoting activities: evidence for structural homology with insulin B chain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:4379-4381.
- Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev* 1989;10:68-91.
- Frattali AL, Pessin JE. Relationship between alpha subunit ligand occupancy and beta subunit autophosphorylation in insulin/insulin-like growth factor I hybrid receptors. *J Biol Chem* 1993;268:7393-7400.
- Ullrich A, Gray A, Tam AW, Tang-Feng T, Tsubokawa M, Colloins C, Henzel W, Le Bon T, Kathuria S, Chen E, Jacobs S, Francke U, Ramachandran J, Fujita-Yamaguchi Y. Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity. *EMBO J* 1986;5:2503-2512.
- LeRoith D, Werner H, Beitner-Johnson D, Roberts CT Jr. Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocr Rev* 1995;16:143-163.
- Myers MG Jr, Sun XJ, Cheatham B, Jachna BR, Glasheen EM, Backer JM, White MF. IRS-I is a common element in insulin and insulin-like growth factor-I signaling to the phosphatidylinositol 3'-kinase. *Endocrinology* 1993;132:1421-1430.
- Park YH, Seol JI, Kim HI, Kim MJ, Lee HJ, Kim SA, Kim CJ, Chung JH. Salicylate induced apoptosis in A549 cells. *J Korean Cancer Assoc* 2000;32:734-741.